

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**



Russian Committee
for Patents and Trademarks

(19) **RU** (11) **2065307** (13) **C1**

(51) **6 A 61 K 38/17//**

(A 61 K 38/17, 31:71, 35:54)

(12) ABSTRACT OF RUSSIAN PATENT

1

(21) 94042656/14

(46) 20.08.96

(71) (73) Tikhonov Aleksandr Vasil'evich, Shcherbakov Vladimir Mikhajlovich, Volodarskij Valerij Igorevich

(54) **METHOD OF PRIMARY LIVER CANCER TREATMENT AND KIT FOR PRIMARY LIVER CANCER TREATMENT**

(57) FIELD: medicine, oncology. SUBSTANCE: method, involves administration of doxorubicin dissolved in lipiodol ultrafluid in hepatic artery. Doxorubicin preparation used - doxorubicin-estrone dissolved in 96% ethanol at 70-76°C; dose is 20-60 mg per 10-15 ml lipiodol ultrafluid. Preliminary, 20 min. before, alpha-

(22) 13.12.94

2

fetoprotein is administrated in hepatic artery at dose 2-10 mg in 12-15 saline solution and repeated treatment is carried out in 3-4 weeks. Kit for treatment contains doxorubicin preparation and lipiodol ultrafluid, and doxorubicin preparation is sterile doxorubicin-estrone (20-60 mg in vials, volume is 15 ml), sterile lipiodol ultrafluid in two ampoules by 10 ml and, additionally, sterile lyophilized preparation of human alpha-fetoprotein at amount 1-10 mg in vials by 10 ml, sterile saline solution (15 ml in ampoule) and 96% ethanol (5 ml in ampoule). Method can be used for chemotherapy of oncological patients. EFFECT: improved method of treatment 3 cl, 1 tbl

(56) KONNO T. et al - in EUR. J. Cancer,
1992, 28, p 403-408

RU 2065307 C1



**Russian Committee
for Patents and Trademarks**

(19) **RU** (11) **2065307** (13) **C1**

(51) **6 A 61 K 38/17//**

(A 61 K 38/17, 31:71, 35:54)

(12) ABSTRACT OF RUSSIAN PATENT

1

(21) 94042656/14

(46) 20.08.96

(71) (73) Tikhonov Aleksandr Vasil'evich, Shcherbakov Vladimir Mikhajlovich, Volodarskij Valerij Igorevich

(54) METHOD OF PRIMARY LIVER CANCER TREATMENT AND KIT FOR PRIMARY LIVER CANCER TREATMENT

(57) FIELD: medicine, oncology. SUBSTANCE: method involves administration of doxorubicin dissolved in lipiodol ultrafluid in hepatic artery. Doxorubicin preparation used – doxorubicin–estrone dissolved in 96% ethanol at 70–76 C, dose is 20–60 mg per 10–15 ml lipiodol ultrafluid. Preliminary, 20 min. before, alpha–

2

fetoprotein is administrated in hepatic artery at dose 2–10 mg in 12–15 saline solution and repeated treatment is carried out in 3–4 weeks. Kit for treatment contains doxorubicin preparation and lipiodol ultrafluid, and doxorubicin preparation is sterile doxorubicin–estrone (20–60 mg in vials, volume is 15 ml), sterile lipiodol ultrafluid in two ampoules by 10 ml and, additionally, sterile lyophilized preparation of human alpha–fetoprotein at amount 1–10 mg in vials by 10 ml, sterile saline solution (15 ml in ampoule) and 96% ethanol (5 ml in ampoule). Method can be used for chemotherapy of oncological patients. EFFECT: improved method of treatment. 3 cl, 1 tbl

RU 2065307 C1

Изобретение относится к области медицины, в частности к онкологии. Может найти применение при химиотерапии онкологических пациентов, страдающих первичным раком печени.

Первичный рак печени одно из самых злокачественных новообразований человека. Лечение больных представляет собой трудную задачу. Шанс на излечение дает операция, выполненная на ранних стадиях болезни, однако чаще в опухолевый процесс оказываются вовлечены обе доли печени. Кроме того, сопутствующий цирроз, массивный тромбоз и инфильтрация портальной вены рассматриваются как противопоказания к операции; потенциально резектабельными могут считаться до 30% больных. Послеоперационные осложнения тяжелы, а рецидив болезни является скорее правилом, чем исключением. Поэтому подавляющему числу больных первичным раком печени показано консервативное лечение. Первичный рак печени относится к числу резистентных к химиотерапии форм злокачественных новообразований. Эффективность системной химиотерапии фторурацилом крайне низка, некоторое улучшение результатов достигнуто при использовании доксорубина. Интерес к региональной химиотерапии не ослабевает. Введение цитостатиков в печеночную артерию создает в опухоли высокую концентрацию лекарства и теоретически должно вести к увеличению терапевтической эффективности при снижении общих побочных токсических реакций. Чаще для региональной внутривенной химиотерапии применяют доксорубин по 60–75 мг/кв. м один раз в 2–6 недель или по 7–30 мг/кв. м в течение 72 часов непрерывно. Максимальная продолжительность жизни больных, леченных с эффектом 20 мес, комбинированная химиотерапия доксорубином и митомицином С не улучшает результатов лечения.

Известен способ лечения с применением препаратов даунорубин–арахионовая кислота и альфа–фетопротейна человека. Способ получения этих препаратов описан в журнале *Cancer Res.* 43, 2668–2672 (1983). В вышеупомянутом источнике сообщается, что совместное применение препаратов даунорубин–арахионовая кислота и альфа–фетопротейна человека приводит к синергическому цитостатическому эффекту в экспериментах *in vitro* при воздействии на опухолевые клеточные линии человека, обладающие рецептором к альфа–фетопротейну, и в экспериментах *in vivo* на животных с перевитыми опухолями человека.

Предпосылками создания предлагаемого средства явились исследования докторов Коно и Дейча. В 1983 г. доктором Коно было предложено использовать для направленной доставки противоопухолевых препаратов в некоторые типы опухолевых тканей гидрофобное соединение липидов ультрафлюид. Изначально это соединение было синтезировано как контрастное вещество для рентгеновского обследования. Липидов ультрафлюид представляет собой масло из макового семени с замещенным этиловым эфиром на эфир

глицерина. Вязкость соединения при 15°С составляет 70 снс, плотность при 15°С 1,28. 1 г. Липидов ультрафлюид содержит 0,38 г йода. При внутриапериальном введении липидов ультрафлюид диспергирует на мелкие жировые капли. Из-за морфологических различий между каплями опухолевой и нормальной тканей эти капли задерживаются в первой и быстро удаляются из второй. Например, в тканях первичного рака печени липидов ультрафлюид может находиться до 3–х месяцев, в метастазирующем раке печени, раке легкого и некоторых опухолях мочевого пузыря несколько недель. Из нормальной же тканей липидов ультрафлюид выводится в среднем за 24 часа. Это свойство доктор Коно использовал для направленной доставки противоопухолевых препаратов в ткани первичного рака печени. Противоопухолевый препарат предварительно растворялся в липидов ультрафлюиде и затем внутриапериально вводился пациенту. В опухолевые ткани лекарственный препарат проникал растворенным в жировых пузырьках липидов ультрафлюид, из которых происходила его медленная диффузия в кровь. Таким образом, липидов ультрафлюид служит своеобразным резервуаром противоопухолевого препарата, что позволяет поддерживать относительно высокие концентрации последнего продолжительное время. Как показали дальнейшие исследования, метод Коно позволяет увеличивать эффективность химиотерапевтического воздействия при терапии первичного рака печени в 2,5–3 раза по сравнению с результатами, наблюдаемыми при применении противоопухолевого препарата в свободном виде. В качестве противоопухолевых препаратов доктор Коно применял доксорубин, митомицин С, SMANCS, акларубин. Последнюю работу предлагается рассматривать в качестве ближайшего аналога.

Некоторые онкофетальные белки, в частности белок плазмы крови, альфа–фетопротейн, обладают уникальным свойством селективно проникать в соответствии с механизмом рецепторного эндоцитоза в некоторые типы опухолевых, но не нормальных клеток. Кроме этого, чрезвычайно важно свойство альфа–фетопротейна связывать определенные стероидные гормоны и полиненасыщенные жирные кислоты. Доктором Дейчем впервые была сформулирована и затем экспериментально подтверждена гипотеза о возможности направленного транспорта противоопухолевых препаратов в некоторые виды опухолевых клеток с использованием в качестве транспортного белка альфа–фетопротейна. Суть предложенного доктором Дейчем метода заключается в следующем. Химическим способом синтезировали ковалентный комплекс даунорубин арахидоновая кислота. За счет входящей в состав такого комплекса арахидоновой кислоты он был способен эффективно связываться с альфа–фетопротейном и в таком

виде селективно проникать в некоторые опухолевые, но не нормальные клетки. Наиболее эффективный захват тройного комплекса доксорубицин-арахионовая кислота – альфа-фетопротеин происходил клетками гепатоклеточной карциномы. После проникновения в опухолевую клетку антибиотик не терял цитостатической активности при значительном снижении общей токсичности.

Наиболее близким аналогом к предложенному нами способу лечения следует рассматривать работу Коно. В этой работе показано, что применение доксорубицина в суспензии с липиодолом ультрафлуид при внутриартериальном введении в печеночную артерию приводит к существенному увеличению (в 2–3 раза по сравнению с обычными способами лечения) эффективности химиотерапевтического воздействия при лечении первичного рака печени.

Нами гидрофобный растворитель липиодол ультрафлуид был использован для доставки в опухолевые ткани вещества доксорубицин-эстроны, получение которого описано в патенте N 2026687, приоритет от 24 мая 1993 г. ("Способ получения препарата для направленной доставки противоопухолевых лекарств в раковую клетку"). Показано, что это вещество из-за входящего в его состав стероидного гормона эстроны способен эффективно взаимодействовать с альфа-фетопротеином, который в свою очередь по механизму рецепторного эндоцитоза направленно проникает в некоторые опухолевые (первичный рак печени, рак легких, желудочно-кишечного тракта, некоторые опухоли мочеполовой системы, нейробластома), но не нормальные клетки. Таким образом, в опухолевых тканях на длительное время достигается высокая концентрация противоопухолевого антибиотика доксорубицина в комплексе с эстроном. Вместе с тем применение экзогенного альфа-фетопротеина из фетального биологического материала человека, получение которого описано в работе L. R. Purves, E. van der Merve and I. Bersohn, S. Afr. Med. J. 1970, 1256–1260, позволяет осуществлять направленную доставку вещества доксорубицин-эстроны в опухолевые, но не нормальные клетки.

Таким образом результатом предложения является создание нового способа лечения. Его новизна заключается в том, что для направленной доставки нового противоопухолевого вещества, доксорубицин-эстроны, в опухолевые клетки используется онкофетальный белок, альфа-фетопротеин, который способен взаимодействовать и образовывать комплекс со стероидным гормоном, эстроном, входящим в состав этого вещества. Предложенный способ позволяет существенно снизить побочные токсические эффекты, увеличить эффективность химиотерапевтического воздействия и уменьшить дозы противоопухолевого вещества доксорубицин-эстроны по сравнению с применяемыми в настоящее время дозами доксорубицина.

Реализация способа лечения.

Больной готовится к процедуре как к обычному

ангиографическому исследованию. После чрезкожной катетеризации аорты по Сельдингеру дистальный конец катетера устанавливается в систему печеночной артерии (общей или собственно печеночной), выполняется ангиография с последующим анализом артериальной и венозной фаз. Под рентгенотелевизионным контролем с помощью рентгеноконтрастного вещества (верографин, триомграфин) необходимо убедиться в отсутствии сброса крови в другие, кроме печеночной системы, сосудистые бассейны. Лиофилизированный стерильный препарат альфа-фетопротеина вводится внутриартериально в количестве 2–10 мг в 12–15 мл физиологического раствора. Через 20 минут при условии отсутствия непосредственных побочных токсических реакций (аллергические реакции, боли в грудной клетке, падение артериального давления, тахикардия, тахикардия) стерильный комплекс доксорубицин-эстроны в количестве 20–60 мг растворяют в 0,5–1,5 мл 96% этилового спирта при

нагревании до 70–76°С. Полученный раствор переводят в 10–15 мл предварительно подогретого липиодол ультрафлуида. Полученную суспензию

охлаждают до 32–37°С и вводят под контролем рентгенотелевидения в печеночную артерию. Спустя 3–4 недели проводят повторные введения препаратов альфа-фетопротеина и комплекса доксорубицин-эстроны по описанной выше методике.

Всего предложенным методом было пролечено 10 больных в возрасте от 21 до 65 лет мужского и женского пола. Условиями предварительного отбора больных служили отсутствие желтухи и асцита, неоперабельность, отсутствие тяжелых сопутствующих заболеваний. Оценка токсичности и эффективности проводилась по критериям ВОЗ. Были изучены следующие параметры после проведения лечения: продолжительность ремиссии время от начала лечения до прогрессирования процесса при оценке лечения: "стабилизация", "минимальны", "частичный", "полный эффект", а также продолжительность жизни больных, которая исчислялась от начала лечения. В процессе лечения больным назначали следующие виды обследования: коагулограмму, ЭКГ, клинические анализы крови и мочи, лапароскопию, определение в крови альфа-фетопротеина, ангиографию, компьютерную томографию, ультразвуковую томографию.

Основные результаты исследования представлены в таблице.

Пример 1. Выписка из истории болезни 126/98. Больной В. Г. первичный рак печени.

Проведенный химиотерапевтический курс представлял собой внутриартериальное введение альфа-фетопротеина в количестве 4 мг и препарата доксорубицин-эстроны в количестве 50 мг с повторением введений спустя 3 недели. В результате уровень альфа-фетопротеина в крови снизился с 56 мкг/мл (показатель до лечения) до 10 нг/мл спустя 15 месяцев после лечения. Результатом лечения

явилось существенное улучшение биохимических показателей крови, уменьшение размеров опухоли, достигнута продолжительная ремиссия болезни.

Вывод: предложенный курс химиотерапии способствует благоприятному течению заболевания. Продолжить лечение согласно предлагаемой схеме при возникновении рецидива заболевания. Больной наблюдался 17 месяцев. Окончательный диагноз: длительная ремиссия заболевания, метастазы отсутствуют (согласно данным томографического обследования).

Пример 2. Выписка из истории болезни 123/57. Больной Л. Д. первичный рак печени.

Проведенный химиотерапевтический курс представлял собой внутриаартериальное введение альфа-фетопротейна в количестве 6 мг и препарата доксорубицин-эстрон в количестве 60 мг с повторением введений спустя 4 недели. В результате уровень альфа-фетопротейна в крови снизился с 102 мкг/мл (показатель до лечения) до 8 нг/мл спустя 16 месяцев после лечения. Результатом лечения явилось существенное улучшение биохимических показателей крови, исчезновение, достигнута продолжительная ремиссия болезни.

Вывод: предложенный курс химиотерапии способствует благоприятному течению заболевания. Продолжить лечение согласно предлагаемой схеме при возникновении рецидива заболевания. Больной наблюдался 20 месяцев. Окончательный диагноз: длительная ремиссия заболевания, метастазы отсутствуют, опухоль не обнаруживается (согласно данным томографического обследования).

Таким образом, предлагаемый способ может существенно повысить эффективность способов лечения онкологических заболеваний.

Заявитель предлагает также набор для лечения больных первичным раком печени. В этот набор входят стерильный лиофилизированный препарат альфа-фетопротейна человека в количестве 1–10 мг в пузырьках вместимостью 10 мл, стерильный

препарат доксорубицин-эстрон в количестве 20–60 мг в пузырьках вместимостью 15 мл, стерильный физиологический раствор объемом 15 мл в ампуле, 96% этиловый спирт объемом 5 мл в ампуле, стерильный липиодол ультрафлуид объемом 20 мл в двух ампулах по 10 мл.

Прототипом является набор для лечения онкологических больных. В этот набор входят стерильный лиофилизированный препарат доксорубицина в количестве 10 мг в пузырьках вместимостью 10 мл и липиодол ультрафлуид объемом 10 мл в ампуле.

Набор реализуется как описано в разделе Реализация способа лечения, т. е. предварительно осуществляют катетеризацию печеночной артерии. Под рентгенотелевизионным контролем с помощью рентгеноконтрастного вещества убеждаются в отсутствии сброса крови в другие, кроме печеночной системы, сосудистые бассейны. Лиофилизированный стерильный альфа-фетопротейн вводят внутриаартериально в количестве 2–10 мг в 12 мл физиологического раствора. Через 20 мин при условии отсутствия побочных токсических реакций стерильное вещество доксорубицин-эстрон в количестве 20–60 мг растворяют в 0,5–1,5 мл 96%

этилового спирта при нагревании до 70–76°С. Полученный раствор переводят в 10–15 мл предварительно подогретого липиодол ультрафлуида.

Полученную суспензию охлаждают до 37°С и вводят под контролем рентгенотелевидения в печеночную артерию. Спустя 3–4 недели проводят повторное введение альфа-фетопротейна и вещества доксорубицин-эстрон по описанной выше методике. При этом соотношение альфа-фетопротейна и вещества доксорубицин-эстрон в растворе липиодол ультрафлуид в организме при разовом введении препарата составляет (в мг) 2–10 20–60 соответственно. ТТТ1

Формула изобретения

1. Способ лечения первичного рака печени, включающий введение в печеночную артерию препарата доксорубицина, растворенного в липиодол ультрафлуиде, отличающийся тем, что в качестве препарата доксорубицина используют доксорубицин-эстрон, растворенный в 96%-ном этиловом спирте при 70–76°С в дозе 20–60 мг на 10–15 мл липиодол ультрафлуида, при этом предварительно за 20 мин в печеночную артерию вводят альфафетопротейн в дозе 2–10 мг в 12–15 мл физраствора, причем повторное лечение проводят через 3–4 недели.

2. Набор для лечения первичного рака печени,

содержащий препарат доксорубицина и липиодол ультрафлуид, отличающийся тем, что в качестве препарата доксорубицин он содержит стерильный доксорубицин-эстрон в количестве 20–60 мг в пузырьках вместимостью 15 мл, стерильный липиодол ультрафлуид в двух ампулах по 10 мл и дополнительно стерильный лиофилизированный препарат альфа-фетопротейна человека в количестве 1–10 мг в пузырьках вместимостью 10 мл, стерильный физиологический раствор объемом 15 мл в ампуле и 96% этиловый спирт объемом 5 мл в ампуле.

Таблицы

Группы больных	Срок наблюдения (мес.)	Продолжительность жизни (мес.)
Контроль		
1	6	6
2	8	8
3	5	5
4	12	—
5	6	6
6	7	7
Пациенты, получившие альфа-фетопротеин и доксорубицин-эстрон		
1	12	—
2	16	—
3	14	—
4	13	13
5	16	—
6	14	—
7	13	—
8	17	17
9	14	—
10	15	—

Примечание: контролем служили пациенты, больные первичным раком печени, которым проводили общепринятый химиотерапевтический курс доксорубицина (60–75 мг/м.кв. один раз в 2–6 недель или 7–30 мг/м.кв. в течение 72 часов непрерывно).